



Europäisches Patentamt

European Patent Office

Office européen des brevets

Veröffentlichungsnummer:

**0 126 351**  
**A1**

## EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

Anmeldenummer: 84105016.4

Int. Cl.<sup>3</sup>: **C 07 D 499/18, C 07 D 307/94,**  
**C 07 C 69/675**

Anmeldetag: 04.05.84

Priorität: 19.05.83 DE 3318194

Anmelder: **Fried. Krupp Gesellschaft mit beschränkter Haftung, Altendorfer Strasse 103, D-4300 Essen 1 (DE)**

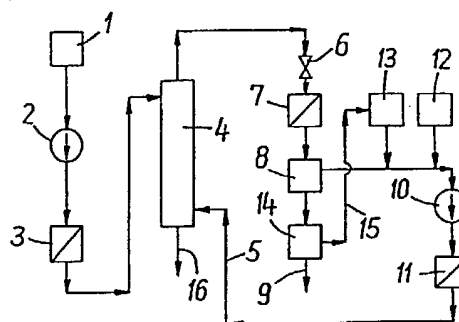
Veröffentlichungstag der Anmeldung: 28.11.84  
Patentblatt 84/48

Erfinder: **Coenen, Hubert, Dr., Wortbergrode 13, D-4300 Essen 1 (DE)**  
Erfinder: **Hagen, Rainer, Schäferstrasse 24, D-4300 Essen (DE)**

Benannte Vertragsstaaten: AT BE CH FR GB IT LI NL SE

### Verfahren zur Isolierung und Reinigung von Antibiotika.

Es wird ein Verfahren zur Isolierung und Reinigung von Antibiotika vorgeschlagen, bei dem eine antibiotikahaltige Lösung mit einem Extraktionsmittel bei einer Temperatur von 0 bis 40°C sowie einem Druck, der zwischen dem kritischen Druck und dem zehnfachen Wert des kritischen Drucks des Extraktionsmittels liegt, extrahiert wird, wobei das Gewichtsverhältnis von antibiotikahaltiger Lösung zum Extraktionsmittel 1:5 bis 1:20 beträgt, bei dem die Antibiotika aus dem antibiotikahaltigen Extraktionsmittel durch Erniedrigung seiner Dichte ausgefällt werden und bei dem das Extraktionsmittel im Kreislauf geführt wird. Dem Extraktionsmittel kann ein Schleppmittel zugesetzt werden. Die Erniedrigung der Dichte des antibiotikahaltigen Extraktionsmittels kann durch Entspannung auf einen Druck von 30 bis 70 bar erfolgen.



EP 0 126 351 A1

FRIED. KRUPP GESELLSCHAFT MIT BESCHRÄNKTER HAFTUNG  
in Essen

Verfahren zur Isolierung und Reinigung von Antibiotika

Die Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Isolierung und Reinigung von Antibiotika. Die Antibiotika bilden eine Gruppe von Arzneimitteln, die sich zur Bekämpfung von Infektionskrankheiten eignen. Die Antibiotika werden meistens durch einen Mikroorganismus produziert und sind in der Lage, andere Mikroorganismen in ihrem Wachstum zu hemmen oder abzutöten. Zur Gruppe der Antibiotika gehören die Penicilline, Cephalosporine, Tetracycline, Aminoglykosid-Antibiotika, Nukleosid-Antibiotika, Makrolid-Antibiotika, Ansamycine, Peptid-Antibiotika und Antibiotika mit individueller Struktur. Die weitaus meisten Antibiotika werden in einem Fermentationsprozeß unter sterilen Bedingungen von einem Mikroorganismus gebildet, der in einer Nährlösung unter Zufuhr von Luft kultiviert wird. Wenn die Kultur einen ausreichend hohen Gehalt des vom Mikroorganismus gebildeten Antibiotikums hat, wird sie abgeerntet, was entweder durch Trocknung, insbesondere Sprühtrocknung, der gesamten Kultur oder durch Filtration und anschließende Aufarbeitung der antibiotikahaltigen Kulturlösung bzw. des antibiotikahaltigen Mycels erfolgt. Die Aufarbeitung der antibiotikahaltigen Kulturlösung bzw. des antibiotikahaltigen Mycels erfolgt durch vielstufige Isolierungs- und Reinigungsverfahren, wobei in einer ersten Stufe eine Extraktion und in einer zweiten Stufe eine Fällung der extrahierten Antibiotika durchgeführt wird. Es ist auch möglich, die Antibiotika in der ersten Verfahrensstufe direkt aus der abfiltrierten antibiotikahaltigen

Kulturlösung auszufällen. Die durch Fällung erhaltenen Zwischenprodukte müssen gereinigt werden, was insbesondere durch mehrmaliges Umkristallisieren und Umfällen geschieht. Da sich viele Antibiotika aus  
5 unterschiedlichen Gründen im gelösten Zustand schnell zersetzen, muß ihre Isolierung und Reinigung möglichst schnell erfolgen. Außerdem ist bei der Isolierung und Reinigung von Antibiotika darauf zu achten, daß sie nicht zu stark erwärmt werden, da sich die meisten  
10 dieser Verbindungen bei höheren Temperaturen zersetzen.

Bei den bekannten Verfahren, die zur Isolierung und Reinigung der Antibiotika angewendet werden, fallen in den einzelnen Verfahrensstufen antibiotikahaltige Lösungen an, die neben Wasser auch organische Lösungsmittel enthalten. Aus diesen Lösungen müssen nicht  
15 nur die Antibiotika abgetrennt, sondern auch die organischen Lösungsmittel entfernt werden, bevor sie in das Abwasser eingeleitet werden können. Außerdem verursacht die Vielstufigkeit der Isolierungs- und  
20 Reinigungsverfahren Ausbeuteverluste sowie Betriebsstörungen.

Der Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zur Isolierung und Reinigung von Antibiotika zu schaffen, das die Zahl der erforderlichen Verfahrensschritte  
25 signifikant verringert und die Antibiotika-Ausbeute erhöht.

Die der Erfindung zugrundeliegende Aufgabe wird dadurch gelöst, daß eine antibiotikahaltige Lösung mit einem Extraktionsmittel, dessen kritische Temperatur  
30 im Bereich von 0 bis 160°C liegt, bei einer Temperatur von 0 bis 40°C sowie einem Druck, der zwischen dem kritischen Druck und dem zehnfachen Wert des kritischen Drucks des Extraktionsmittels liegt,

extrahiert wird, wobei das Gewichtsverhältnis von  
antibiotikahaltiger Lösung zum Extraktionsmittel  
1:5 bis 1:20 beträgt, daß das antibiotikahaltige  
Extraktionsmittel anschließend von der extrahierten  
5 Lösung abgetrennt wird, daß die Antibiotika danach  
aus dem antibiotikahaltigen Extraktionsmittel durch  
Erniedrigung seiner Dichte ausgefällt werden und  
daß das Extraktionsmittel dann in die Extraktions-  
stufe zurückgeführt wird. Dieses Verfahren arbeitet  
10 in vorteilhafter Weise bei Temperaturen, die keine  
Zersetzung der Antibiotika bewirken. Ferner liefert  
das Verfahren sehr reine Antibiotika, wodurch ein  
mehrmaliges Umkristallisieren bzw. Umfällen entfallen  
kann. Schließlich erfolgt die Ausfällung der Antibioti-  
15 ka aus dem antibiotikahaltigen Extraktionsmittel durch  
Erniedrigung seiner Dichte, was den Vorteil hat, daß  
zusätzliche Fällungsmittel nicht benötigt werden.

In weiterer Ausgestaltung der Erfindung ist vorge-  
sehen, daß als Extraktionsmittel  $\text{CO}_2$ ,  $\text{C}_2\text{H}_4$ ,  $\text{C}_2\text{H}_6$ ,  
20  $\text{C}_3\text{H}_6$ ,  $\text{C}_3\text{H}_8$ ,  $\text{C}_4\text{H}_{10}$ ,  $\text{SF}_6$ ,  $\text{CHClF}_2$ ,  $\text{CF}_3\text{Cl}$ ,  $\text{CF}_3\text{Br}$ ,  $\text{C}_2\text{F}_2\text{Cl}_2\text{H}_2$ ,  
 $\text{N}_2\text{O}$  oder ein Gemisch aus mindestens zwei dieser  
Stoffe verwendet wird. Diese Extraktionsmittel haben  
den Vorteil, daß sie rückstandsfrei aus der zu extra-  
hierenden Lösung entfernt werden können oder doch  
25 im extrahierten Lösungsmittel verbleiben dürfen (z. B.  
Kohlendioxid). Ferner ist nach der Erfindung vorge-  
sehen, daß dem Extraktionsmittel 1 bis 50 Gew.-%  
Äthanol, Methylacetat, Äthylacetat, Propylacetat,  
Butylacetat, Diäthyläther, Aceton, Methylenchlorid  
30 und/oder Wasser als Schleppmittel zugesetzt wird.  
Durch die Verwendung eines Schleppmittels kann die  
Löslichkeit des Extraktionsmittels für die zu extra-  
hierenden Antibiotika so erhöht werden, daß eine  
wesentliche Verkürzung der Extraktionszeit erreicht  
35 wird. Die Schleppmittel müssen sowohl aus der extra-  
hierten Lösung als auch aus dem Extrakt zurückge-

wonnen werden.

- Nach der Erfindung ist es besonders vorteilhaft, wenn die Erniedrigung der Dichte des antibiotikahaltigen Extraktionsmittels durch Entspannung auf
- 5 einen Druck von 30 bis 70 bar bei einer Temperatur von 0 bis 40°C erfolgt, denn bei dieser Temperatur tritt eine Zersetzung der Antibiotika nicht ein. In manchen Fällen ist es besonders vorteilhaft, wenn die Entspannung des antibiotikahaltigen Extraktions-
- 10 mittels in mehreren Stufen erfolgt, da mit dieser Verfahrensführung mehrere Antibiotika-Fractionen unterschiedlicher Reinheit gewonnen werden können, von denen die mit geringerem Reinheitsgrad im Kreislauf zu führen sind.
- 15 Obwohl aus der DE-AS 1 493 190 ein Verfahren zur Auftrennung von flüssigen und/oder festen Stoffgemischen bekannt ist, bei dem das Stoffgemisch mit einem unter überkritischen Bedingungen der Temperatur und des Drucks stehenden Gas im Temperatur-
- 20 bereich bis über 100°C über seiner kritischen Temperatur behandelt wird und nach Abtrennung der beladenen überkritischen Gasphase die in ihr enthaltenen Verbindungen durch Entspannung und/oder Temperaturerhöhung zurückgewonnen werden, kann diese Druckschrift
- 25 den Fachmann nicht zum erfindungsgemäßen Verfahren hinführen, denn sie enthält keinen Hinweis darauf, daß die Antibiotika mit einem Extraktionsmittel, dessen kritische Temperatur im Bereich von 0 bis 160°C liegt, bei einer Temperatur von 0 bis 40°C sowie einem Druck,
- 30 der zwischen dem kritischen Druck und dem zehnfachen Wert des kritischen Drucks des Extraktionsmittels liegt, extrahiert werden können und daß die Ausfällung der Antibiotika bei einer Temperatur von 0 bis 40°C erfolgen kann.

Der Gegenstand der Erfindung wird nachfolgend anhand der Zeichnung und von mehreren Ausführungsbeispielen näher erläutert.

Die Zeichnung zeigt den prinzipiellen Ablauf des  
5 erfindungsgemäßen Verfahrens, der jeweils den  
speziellen Erfordernissen des Einzelfalles anzupassen ist. Die ungereinigte antibiotikahaltige  
Lösung gelangt aus dem Vorratstank 1 in eine Pumpe 2,  
von der sie auf den Extraktionsdruck komprimiert  
10 und in den Wärmeaustauscher 3 gefördert wird, wo  
die Einstellung der Extraktionstemperatur erfolgt.  
Die Lösung wird danach in den Kopfteil einer Hochdruckkolonne 4 gefördert, der am Fuß über die Leitung 5 das Extraktionsmittel zugeführt wird. In der  
15 Hochdruckkolonne 4, die den Stoffaustausch begünstigende Einbauten enthält, wird die antibiotikahaltige Lösung vom Extraktionsmittel im Gegenstrom kontinuierlich extrahiert, wobei die Verunreinigungen in der Lösung verbleiben. Das antibiotikahaltige Extraktions-  
20 mittel wird der Hochdruckkolonne 4 kopfseitig entnommen und über das Entspannungsventil 6 sowie den Wärmeaustauscher 7 in den Abscheider 8 gefördert, wo die Antibiotika ausfallen. Wenn das Extraktionsmittel ein Schleppmittel enthält, fällt ein Teil des  
25 Schleppmittels zusammen mit den Antibiotika aus. In der nachgeschalteten Separierstufe 14 werden die Antibiotika vom Schleppmittel getrennt. Die Antibiotika werden über die Leitung 9 entnommen, während das Schleppmittel über die Leitung 15 in den Vorratstank  
30 13 gelangt. Die Antibiotika haben in den meisten Fällen eine ausreichende Reinheit und werden lediglich nachgetrocknet sowie sterilisiert. Aus dem Abscheider 8 wird das antibiotikafreie Extraktionsmittel in die Pumpe 10 geführt, die es auf den Extraktions-  
35 druck komprimiert und in den Wärmeaustauscher 11 fördert, wo die Einstellung der Extraktionstemperatur

- erfolgt. Danach gelangt das Extraktionsmittel in die Hochdruckkolonne 4. Extraktionsmittelverluste werden aus dem Vorratstank 12 ergänzt. Die dem Extraktionsmittel zuzusetzenden Schleppmittel werden
- 5 dem Vorratstank 13 entnommen. Der Extraktionsrückstand wird der Hochdruckkolonne 4 über die Leitung 16 entnommen. Es handelt sich dabei um die antibiotikafreie bzw. antibiotikaarme extrahierte Lösung, die noch Schleppmittelreste enthalten kann.
- 10 Nach dem erfindungsgemäßen Verfahren wurden mehrere Antibiotika aus unterschiedlich zusammengesetzten antibiotikahaltigen Lösungen in reiner Form isoliert.

#### Beispiel 1

- Eine ungereinigte Lösung, die aus 72,2% Äthanol,
- 15 23,8% Wasser und 4% Penicillin-V-Säure (=  $\alpha$ -Phenoxyäthyl-Penicillinsäure) besteht, wird kontinuierlich mit Kohlendioxid bei 200 bar und 37°C extrahiert. Dabei nimmt 1 l Gasphase 6 g Penicillin-V-Säure auf und löst außerdem Äthanol und Wasser ent-
- 20 sprechend den thermodynamischen Gleichgewichtsbedingungen. Die Penicillin-V-Säure wird aus dem Extraktionsmittel durch Entspannung auf 60 bar bei 28°C gewonnen. Eine HPLC-Analyse zeigt, daß die isolierte Penicillin-V-Säure eine außerordentlich
- 25 hohe Reinheit hat und daß die in der antibiotikahaltigen Lösung vorhandenen Begleitstoffe bei der Extraktion nahezu quantitativ im Extraktionsrückstand verbleiben.

#### Beispiel 2

- 30 Eine ungereinigte Lösung, die aus 42,5% Äthanol, 40,5% Wasser und 17% Penicillin-V-Säure besteht,

wird kontinuierlich mit Kohlendioxid bei 200 bar und 37°C extrahiert. Bei der Extraktion nimmt 1 l Gasphase 3,5 g Penicillin-V-Säure auf und löst daneben Äthanol sowie Wasser entsprechend den thermodynamischen Gleichgewichtsbedingungen. Aus dem Extraktionsmittel wird die Penicillin-V-Säure durch Entspannung auf 60 bar bei 28°C abgeschieden. Das so gewonnene Produkt hat eine sehr hohe Reinheit und ist frei von den in der Ausgangslösung vorhandenen Begleitstoffen, was mit einer HPLC-Analyse nachgewiesen wurde.

### Beispiel 3

Eine ungereinigte Lösung, die aus 65% Äthanol, 33,5% Wasser und 1,5% Penicillin-V-Säure besteht, wird kontinuierlich mit Äthan bei 200 bar und 37°C extrahiert. Bei der Extraktion wird von 1 l Gasphase 0,9 g Penicillin-V-Säure ausgetragen, und außerdem nimmt das Extraktionsmittel Äthanol sowie Wasser entsprechend den thermodynamischen Gleichgewichtsbedingungen auf. Die Penicillin-V-Säure wird durch Entspannung auf 40 bar bei 28°C aus dem Extraktionsmittel abgeschieden. Das Produkt hat eine sehr hohe Reinheit und ist weitgehend frei von den in der Ausgangslösung vorhandenen Begleitstoffen, was durch eine HPLC-Analyse nachgewiesen werden konnte.

### Beispiel 4

Eine ungereinigte Lösung, die 99% Wasser, 0,6% Äthylacetat und 0,4% Penicillin-V-Säure enthält, wird kontinuierlich mit Kohlendioxid bei 300 bar und 37°C extrahiert. Bei der Extraktion wird von 1 l Gasphase 1,2 g Penicillin-V-Säure aufgenommen und außerdem Wasser sowie Äthylacetat entsprechend



- den thermodynamischen Gleichgewichtsbedingungen gelöst. Die Penicillin-V-Säure wird durch Entspannung auf 60 bar bei 28°C aus dem Extraktionsmittel abgeschieden. Das so gewonnene Produkt hat
- 5 eine sehr hohe Reinheit, und die in der Ausgangslösung vorhandenen Begleitstoffe verbleiben nahezu quantitativ im Extraktionsrückstand, was durch eine HPLC-Analyse nachgewiesen wurde.

#### Beispiel 5

- 10 Eine ungereinigte Lösung, die aus 93,2% Äthanol, 4,0% Wasser und 2,8% Pleuromulin besteht, wird kontinuierlich mit Äthan bei 200 bar und 37°C extrahiert. 1l Gasphase nimmt während der Extraktion 8 g Pleuromulin sowie Wasser und Äthanol entsprechend
- 15 den thermodynamischen Gleichgewichten auf. Das Pleuromulin wird durch Entspannung auf 40 bar bei 28°C aus dem Extraktionsmittel abgeschieden. Das so gewonnene Endprodukt hat eine sehr hohe Reinheit.

#### Beispiel 6

- 20 Eine ungereinigte Lösung, die aus 75,4% Äthanol, 23,4% Wasser und 1,2% Griseofulvin besteht, wird kontinuierlich mit Äthan bei 200 bar und 37°C extrahiert. 1l Gasphase nimmt während der Extraktion 0,3 g Griseofulvin und daneben entsprechend den
- 25 thermodynamischen Gleichgewichten Wasser sowie Äthanol auf. Das Griseofulvin wird durch Entspannung auf 40 bar bei 28°C aus dem Extraktionsmittel abgetrennt. Das Endprodukt hat eine hohe Reinheit, was mit einer HPLC-Analyse nachgewiesen wurde.
- 30 Bei den in den Ausführungsbeispielen 1 bis 6 genannten Prozentzahlen handelt es sich um Gew.-%.

A n s p r ü c h e

1. Verfahren zur Isolierung und Reinigung von Antibiotika, dadurch gekennzeichnet, daß eine antibiotikahaltige Lösung mit einem Extraktionsmittel, dessen kritische Temperatur im Bereich von 0 bis 160°C liegt, bei einer Temperatur von 0 bis 40°C sowie einem Druck, der zwischen dem kritischen Druck und dem zehnfachen Wert des kritischen Drucks des Extraktionsmittels liegt, extrahiert wird, wobei das Gewichtsverhältnis von antibiotikahaltiger Lösung zum Extraktionsmittel 1:5 bis 1:20 beträgt, daß das antibiotikahaltige Extraktionsmittel anschließend von der extrahierten Lösung abgetrennt wird, daß die Antibiotika danach aus dem antibiotikahaltigen Extraktionsmittel durch Erniedrigung seiner Dichte ausgefällt werden und daß das Extraktionsmittel dann in die Extraktionsstufe zurückgeführt wird.

5

10

15
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß als Extraktionsmittel  $\text{CO}_2$ ,  $\text{C}_2\text{H}_4$ ,  $\text{C}_2\text{H}_6$ ,  $\text{C}_3\text{H}_6$ ,  $\text{C}_3\text{H}_8$ ,  $\text{C}_4\text{H}_{10}$ ,  $\text{SF}_6$ ,  $\text{CHClF}_2$ ,  $\text{CF}_3\text{Cl}$ ,  $\text{CF}_3\text{Br}$ ,  $\text{C}_2\text{F}_2\text{Cl}_2$ ,  $\text{N}_2\text{O}$  oder ein Gemisch aus mindestens zwei dieser Stoffe verwendet wird.

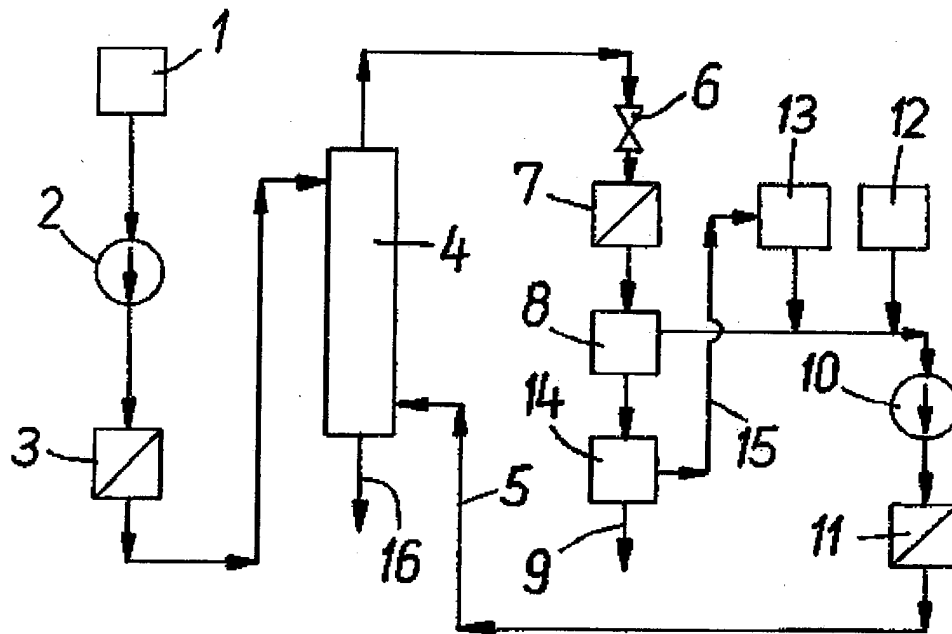
20
3. Verfahren nach den Ansprüchen 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß dem Extraktionsmittel 1 bis 50 Gew.-% Äthanol, Methylacetat, Äthylacetat, Propylacetat, Butylacetat, Diäthyläther, Aceton, Methylenchlorid und/oder Wasser als Schleppmittel zugesetzt wird.

25
4. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Erniedrigung der Dichte des antibiotikahaltigen Extraktionsmittels durch

30

Entspannung auf einen Druck von 30 bis 70 bar  
bei einer Temperatur von 0 bis 40°C erfolgt.

5. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 4, dadurch  
gekennzeichnet, daß die Entspannung des antibioti-  
5 kahaltigen Extraktionsmittels in mehreren Stufen  
erfolgt.





Europäisches  
Patentamt

# EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

0126351

Nummer der Anmeldung

EP 84 10 5016

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int. Cl. 3)
A	US-A-4 354 971 (J.M. EDMUNDOWICZ) * Ansprüche *	1	C 07 D 499/18 C 07 D 307/94 C 07 C 69/675
A	--- GB-A-1 341 921 (FABRICA DE ANTIBIOTICE IASI) * Seite 2; Ansprüche *	1	
A	--- FR-A-1 439 587 (LENINGRADSKY NAUCHNO-ISSLEDOVATELSKY INSTITUT ANTIBIOTIKOV) * Ansprüche *	1	
A	--- FR-A-1 462 217 (LENINGRADSKY NAUCHNO-ISSLEDOVATELSKY INSTITUT ANTIBIOTIKOV) * Ansprüche *	1	
A	--- US-A-4 089 891 (F. KNAUSEDER) * Spalte 1, Zeilen 1-32 *	1	
P, A	--- DE-A-3 218 597 (KARL THOMAE) * Anspruch 1 *	1	
	-----		
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt.			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int. Cl. 3)
			C 07 D 499/00 C 07 D 501/00 C 07 D 307/00 C 07 C 69/00
Recherchenort LEN HAAG		Abschlußdatum der Recherche 20-08-1984	Prüfer CHOULY J.

EPA Form 1503, 03.82

KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTEN  
X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet  
Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie  
A : technologischer Hintergrund  
O : nichtschriftliche Offenbarung  
P : Zwischenliteratur  
T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze

E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist  
D : in der Anmeldung angeführtes Dokument  
L : aus andern Gründen angeführtes Dokument

& : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument